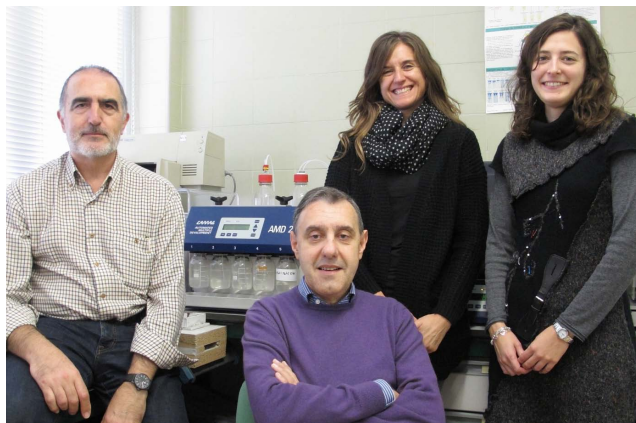



Bestimmung von Monoacylglyceriden in Biodiesel



Von links: Dr. Luis Membrado, Dr. Vicente L. Cebolla, Dr. Carmen Jarne, Maria P. Lapieza

Die Arbeitsgruppe »Trenn- und Detektionstechnologie« des Instituts für Kohlenstoff-Chemie (CSIC) in Zaragoza, Spanien, entwickelt neue analytische Methoden zur Charakterisierung von Lipiden und komplexen Gemischen von Kohlenwasserstoffen. HPTLC wurde bisher für die Analyse von fossilen und Bio-Kraftstoffen nur selten benutzt, obwohl diese Technik dafür gut geeignet ist, besonders wenn es sich um Substanzklassen und nicht um einzelne Verbindungen handelt. Da alle Fraktionen nach der Entwicklung auf der Platte fixiert sind, ist eine quantitative Bestimmung möglich. Das ist ein Vorteil gegenüber säulenchromatographischen Verfahren, weil dort polare oder hochmolekulare Substanzen meist irreversibel am Säulenanfang adsorbiert bleiben.

Einleitung

Biodiesel ist ein auf Lipiden basierender  alternativer Kraftstoff, der hauptsächlich aus Fettsäuremethylestern besteht. Er wird als Ersatz-Dieseltreibstoff in reiner Form (B100) oder als Teilersatz gemischt mit fossilem Dieseltreibstoff (BX, wobei X für den Prozentgehalt B100 steht) in unterschiedlichem Verhältnis eingesetzt. Eine wesentliche Modifikation des Dieselmotors ist zumeist nicht nötig. Ein Fettsäuremethylestergehalt von weniger als 98 % (w/w) weist auf ungenügende Reaktionsbedingungen bei der Biodiesel-Produktion hin und damit auf Verunreinigungen im Endprodukt. Eine Art von Verunreinigungen sind Monoacylglyceride, die zu Verstopfungen des Kraftstoff-Filters führen können. Die Europä-

ische Norm UNE EN 14214:2013 legt fest, dass die Maximalkonzentration 0.8 % (w/w) in BX betragen darf [1].

Als eine modulare und flexible Technik können bei der HPTLC verschiedene chromatographische Entwicklungstechniken und Detektionen sequenziell eingesetzt werden. Es wird nachfolgend eine geeignete Kopplungsmethode zur quantitativen Bestimmung von Monoacylglyceriden in BX-Mischungen vorgestellt und zur Charakterisierung des BX-Zusammensetzungsprofils eingesetzt, wofür nur eine einzige HPTLC-Platte benötigt wird.

Schicht

HPTLC-Platten Kieselgel 60, 20 x 10 cm (Merck) vorgewaschen bis 90 mm durch Entwicklung mit Tetrahydrofuran

Probenauftragen

Bandförmig mit DC-Probenautomat 4 (ATS 4) 0,1 bis 2,5 µL Monoacylglycerid-Standard (1 mg/mL) sowie 25 µL Probe BX (100 mg/mL)

Chromatographie

3-Stufen-Entwicklung im AMD 2-System mit 100 % *t*-Butylmethylether (40 mm), Dichlormethan – *n*-Heptan 4:1 (60 mm) und Dichlormethan – *n*-Heptan 3:2 (90 mm)

Postchromatographische Derivatisierung

Tauchen in eine 0.02 % methanolische Primulinlösung mit der Chromatogramm-Tauchvorrichtung; Tauchgeschwindigkeit 5 cm/s, Verweilzeit 2 s

Densitometrie

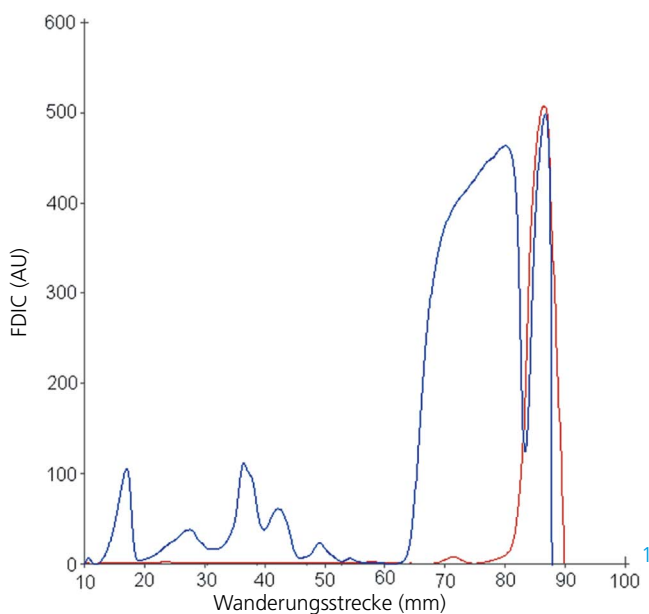
Mit TLC Scanner 3 und winCATS, Fluoreszenzmessung bei 366/>400 nm

Massenspektrometrie

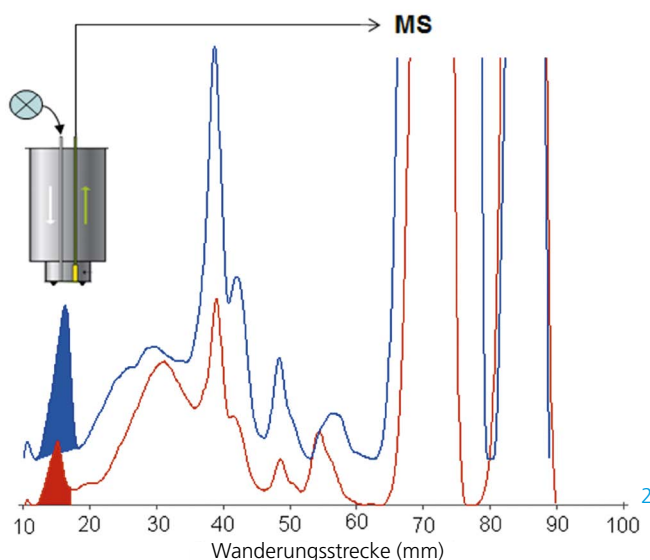
Mittels TLC-MS Interface (mit ovalem Elutionskopf 4 x 2 mm) Elution der Zonen mit Methanol bei einer Flussrate von 0,2 mL/min in ein Ion-Trap MS (Bruker Esquire 3000 plus) betrieben im positiven Elektrospray-Ionisations-Modus (ESI⁺). Von Leerbahnen wurden ebenfalls Proben eluiert (Bindwerte).

Ergebnisse und Diskussion

Das AMD 2-Densitogramm zeigt die Monoacylglycerid-Fractionen **B5** im Bereich von 15–20 mm Wanderungsstrecke. Die anderen detektierten Lipide, z.B. Diacylglyceride, Triacylglyceride und Fettsäuren, liegen bei 20–60 mm und die Fettsäuremethylester als überwiegender Anteil bei 60–83 mm Wanderungsstrecke. Die Fraktion bei 86 mm stimmt mit der Wanderungsstrecke von reinem Dieselkraftstoff überein und entspricht somit dem Dieselanteil in diesem Gemisch.



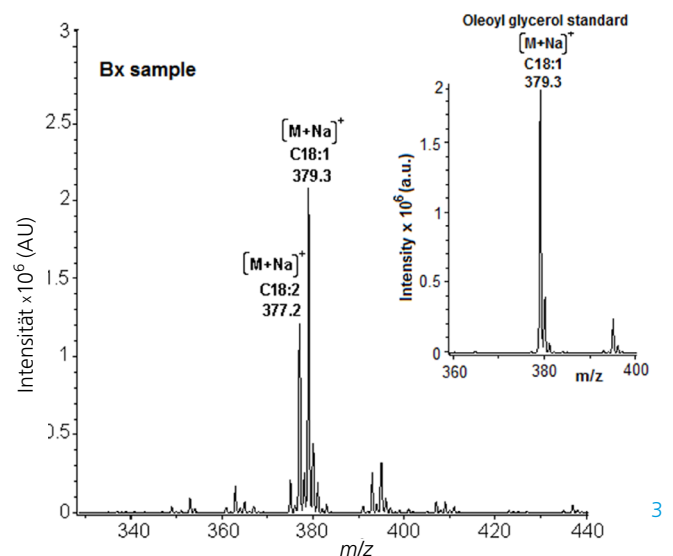
Vergleich der Densitogramme von B50 (5 mg/Zone, blau) und von reinem Diesel (2,5 mg/Zone, rot)



Vergleich der Densitogramme von B5 (rot) und B20 (blau), beide 5 mg/Zone

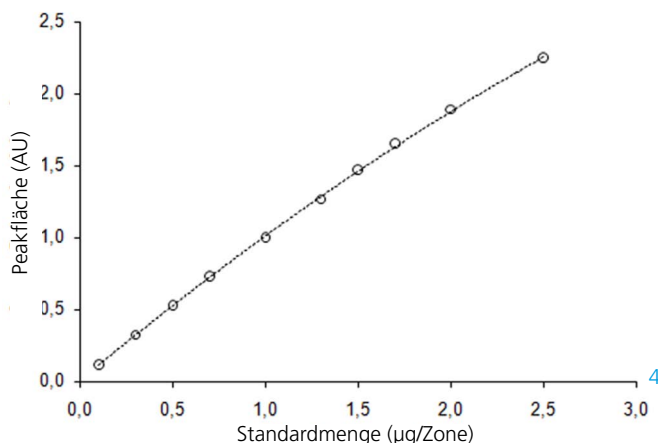
Die Gesamtfläche der Monoacylglyceride erhöhte sich mit dem Anteil von B100 in BX, wie aus den Densitogrammen von B5 und B20 ersichtlich.

Die postchromatographische Derivatisierung mit Primulin (bezeichnet als Fluoreszenzdetektion durch Intensitätsunterschiede FDIC [2]) ist eine nicht-kovalente Wechselwirkung, die eine Fluoreszenzverstärkung von langkettigen Kohlenwasserstoffen bewirkt (z. B. Lipide und gesättigte Kohlenwasserstoffe). Diese Adsorption beeinträchtigt die nachfolgende MS-Erfassung nicht. Nach der Derivatisierung wurden die Monoacylglycerid-Zonen der B100-Proben (16–20 mm) mittels TLC-MS Interface in das ESI-MS überführt und mit dem entsprechenden Monoacylglycerid-Standard verglichen. Das Massensignal bei m/z 379.3 entspricht 1-Oleoylglycerol und war das am häufigsten vorkommende in der analysierten Probe. Das HPTLC-ESI-Massenspektrum zeigte auch andere Ionen an, die weiteren Monoacylglyceriden entsprachen. Auf diese Weise lassen sich Fettsäureprofile der entsprechenden Monoacylglyceride in BX erstellen, was der Identifizierung ihrer Herkunft dienlich ist (z. B. vegan, tierisch und Küchen-Abfällöle).



HPTLC-ESI-Massenspektren der Monoacylglycerid-Zone der B100 Probe (16 mm) und des Oleoylglycerol-Standards

Die Quantifizierung der Monoacylglyceride erfolgte über den 1-Oleoylglycerol-Standard. Die vorgestellte Methode erwies sich als geeignet für die Bestimmung von Monoacylglyceriden in BX-Proben niedriger Konzentration (mit $X \geq 5$) gemäß den heutigen Anforderungen.



Polynome Kalibration des Oleoylglycerol-Standards ($y = -0.070x^2 + 1.077x + 0.006$; $r^2 = 0.999$)

[1] Liquid petroleum products – fatty acid methyl esters (FAME) for use in diesel engines and heating applications – Requirements and test methods. UNE-EN 14214:2013

[2] V.L. Cebolla *et al.* ChemPhysChem 13 (2012) 291

Weitere Informationen sind vom Autor auf Anfrage erhältlich

Kontakt: Dr. Vicente L. Cebolla, CSIC, Instituto de Carboquímica, c/Miguel Luesma, 4, 50018 Zaragoza, Spanien, vcebolla@icb.csic.es

Dank für die finanzielle Unterstützung an Spanish Ministerio de economía y Competividad (MINECO) und FEDER (UE) (Plan Nacional de I+D+I, project CTQ2012-035535) und DGA-ESF. MPL dankt MINECO für die Förderung BES-2013-063673.



CAMAG Linomat 5

Präzision der Volumendosierung, exakte Positionierung sowie minimale Ausbreitung der Auftragzone in Chromatographierichtung sind ausschlaggebend für die Qualität der Ergebnisse.

Mit dem Linomat werden die Proben mittels Stickstoff oder Druckluft strichförmig auf die DC/HPTLC-Platte aufgesprüht. Dieses Verfahren ermöglicht es, grössere Probenvolumina als bei der Kontaktauftragung aufzutragen, da bei dem Sprühvorgang das Lösungsmittel praktisch vollständig verdampft. Selbst wenn stark polare Lösungsmittel verwendet werden, bleiben die aufgetragenen Zonen kompakt und schmal und gewährleisten die bestmögliche Trennleistung.

Der Auftragvorgang geschieht automatisch, lediglich das Wechseln der Proben (Füllen, Einsetzen und Reinigen der Spritze) erfolgt manuell. Vorteilhaft ist die selbstjustierende Objektauflage. Sie erlaubt den Wechsel zwischen Schichten unterschiedlicher Dicke ohne Nachjustieren der Sprühdüse.